

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 核心設施 - 腫瘤組織庫的建立 II

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-3112-B-002-041-Y

執行期間：93年07月01日至94年04月30日

執行單位：國立臺灣大學醫學院免疫學研究所

計畫主持人：許世明

共同主持人：林中梧

計畫參與人員：童熾融、莊麗瑛、呂思杰、劉旻昌

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 7 月 28 日

# 行政院國家科學委員會補助專題研究計畫

成果  
報告

## 核心設施-- 腫瘤組織庫的建立 II

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 93-3112-B-002-041Y

執行期間：93年07月01日至94年04月30日

計畫主持人：臺大醫學院 許世明

共同主持人：林中梧

計畫參與人員：童熾融、莊麗瑛、呂思杰、劉旻昌

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、  
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：臺大醫學院暨附設醫院病理科

中 華 民 國 94 年 07 月 28 日

## 一、研究目的

研究計畫的進行常需以各種不同器官正常及不正常的組織去做定性與定量分析，以確定此基因分子之正常組織分佈或異常組織表現，進而探索其可能的生物功能與其它可能相關因子之複雜作用。如新穎基因功能可能涉及腫瘤生成，探索其在何種腫瘤生成扮演何種角色，皆需要系統性的檢驗其在各型正常組織、良性或惡性腫瘤的表現，來初窺此基因可能涉及細胞生長或繁殖、細胞凋零、細胞老化、細胞分化、去氧核糖核酸突變修復、或染色體功能等，進而釐定我們研究方向。

台大醫院得醫學中心之利，匯集了台灣各式人類常見與罕見的疾病。過去數十年來，由於研究需要醫院各部門已陸續收集各式正常與不正常、新鮮的或福馬林固定的組織標本。但這些組織分散在醫院各部門或各實驗室一直缺乏人力和物力來整理這些重要研究資源，並無法發揮組織庫的功能，實在非常可惜。

組織的多樣性、數量性、罕見性及質地上的正確性、優良性，是我們研究的重要基石，我們希望有系統的建立規模完整之組織庫，提供國家型計畫下同仁研究使用，如許可，亦可擴及全國之研究單位和生物科技公司。甚而可與世界性之大學組織庫互相作交流溝通，促進基礎生命科學、醫學研究和生物科技產業發展。

我們計畫每年搜集有 700 -1000 例之腫瘤標本，以提供 300 例以上之標本給不同的研究者協調其需求，並將利用組織庫相關標本，抽取其核酸 (DNA/RNA) 並提供切片、免疫染色、細胞擷取等服務。

## 二、人力運用情形

參與計畫人員	姓 名	
計畫主持人	2	許世明、林中梧
博士後研究員	0	
碩士級助理	1	莊麗瑛
學士級助理	1	呂思杰
五專級助理	0	
博士班學生	0	
碩士班學生	1	劉旻昌
大專學生	0	

## 三、研究方法

### 檢體採集作業標準流程

- 一、目的：確保腫瘤庫工作人員，可於適當的條件下執行收集腫瘤組織，並且有效的儲存。
- 二、適用範圍：此標準作業流程是用於腫瘤庫的成員
- 三、權責：所有腫瘤庫的成員都有義務去遵守標準作業流程。
- 四、操作用具與試劑：

離心管、Mark 筆、解剖刀片、鋁箔紙、手套、液態氮冷凍盒、冷凍紙盒、檢體包埋盒、O.C.T Compound、冰桶

## 五、作業流程：

基於安全考量，所有處理生物樣品的步驟，操作人員都需要穿戴手套作業。

1. 腫瘤庫工作人員每日上班時去病理部取得當天的開刀房排班表。
2. 取得檢體後，記錄病人基本資料(姓名、生日、性別、電話、地址)。
3. 請醫師將檢體取一塊腫瘤的部分，一塊正常的部分，放到離心管中，離心管上分別標示 T 及 N，並貼上病人名條。

檢體留存注意事項：

- a. 以不影響病理診斷為第一要務。
  - b. 取檢體前要先紀錄腫瘤大小 若肉眼下不確定有腫瘤者，可以先行留存，事後以石蠟切片或冷凍切片來驗證。
  - c. 留距離腫瘤最遠外觀上正常的組織
  - d. 腫瘤組織留存標準：
    - d-1 若小於一公分，將腫瘤對切，外觀上若無明顯差異，原則上存下一半；若有明顯差異，留存時注意不可將不同成分切完，必須要至少有一部份留在石蠟中以供病理檢驗；要以液態氮儲存，以便必要時可以從液態氮中取回腫瘤做成石蠟切片，如此不會影響組織形態。
    - d-2 若大於一公分，原則同前，留下至少  $1 \times 1 \text{ cm}^2$
4. 以 Mark 筆在冷凍標本盒內外盒都依序標上病歷號、姓名、檢體類別 (tumor or normal or pre ca)、日期 (西元年月日)
  5. 以鋁箔紙做好小船，底部以 Mark 筆標上病歷號及檢體類別，加入 O.C.T Compound 放在相對應的標本盒旁備用。
  6. 清洗檢體後，將檢體放入 culture dish，以 10 號刀片將檢體切成三等份。
  7. 一份放入含 O.C.T Compound 的鋁箔紙小船中，再加入一些 O.C.T Compound，避免氣泡產生，將整個小船放到燒杯中。舀液態氮 2~3 匙，加入另一個冰桶中，直到 O.C.T Compound 變成白色固狀，將檢體放入冷凍標本盒，迅速存於 -80 冰箱。
  8. 一份出來 放到 culture dish，以 10 號刀片將檢體切成數等份(視檢體大小而定) 放入以鉛筆標示好病歷號、姓名、檢體類別 (tumor or normal or pre ca)、日期(西元年月日)的冷凍小管。從液態氮桶中拿出最近使用的液態氮冷凍盒，將所有冰上的冷凍小管放入，依照、tumor、normal 的順序，從新的一列開始放，迅速放入液態氮桶儲存。
  9. 將還剩下一份檢體的離心管，倒入 4% paraformaldehyed 必須大於檢體的 10 倍體積，蓋好蓋子後放入 4 冰箱 over night。隔天將檢體拿出放入包埋盒，以鉛筆標示上病歷號、姓名、病理號，拿至病理部上機做石臘包埋。

註：

- (1.) 若檢體量充足則可以增多留存管數，依檢體多寡留存型式優先順序如下：OCT 包埋—液態氮儲存—石臘包埋。
- (2.) OCT 包埋的檢體切一片冷凍切片，以 H&E 染色，交由腫瘤庫負責病理醫師檢

查，確定診斷並以數位相機拍照建檔。

(3.) 腫瘤入庫登記作業須記載以下內容

- a. 病理號碼，病人基本資料。
- b. 部位、診斷。
- c. 留存種類、管數及重量。
- d. 每一管之位置。
- e. 檢體從取下到留存完成所耗用的時間。
- f. 是否有研究用組織保存同意書。
- g. 是否有品質資料及冷凍切片數位影像資料。

(4.) 腫瘤組織、正常組織、或轉移腫瘤之冰凍切片品質資料在一個月內結案。

實驗方法包括：

- (1) 收集各種腫瘤組織(包括：HCC, gastric ca, NPC, oral ca, uterine cervical ca, lung ca, rectal ca, Breast ca, T cell lymphoma )，及鄰近之正常組織(包括：frozen tissue fragments, fixation in 75% 之 alcohol paraffin blocks)；
- (2) 抽取 DNA，RNA 製作 cDNA，protein 及 blotting；
- (3) 用雷射顯微割切機(Laser microdissection)以收取組織中單個癌細胞之用；  
幫助研究者做 in situ hybridization 或 in situ PCR hybridization，需要時可做 primary culture 而收集冷凍細胞，以備作 cytogenetic analysis。

#### 四、結果與討論

在過去將近一年中我們蒐集有 700 例以上之腫瘤標本，以肝癌、乳癌、肺癌及大腸癌為多，約 500 例，並抽取其核酸 (DNA/RNA)，已提供研究者 300 例以上之標本，目前每月約可持續收集 80-100 例，已累積超過 1000 例品質良好的標本。如有需要詳細資料者歡迎與我們聯繫(台大醫學院病理科或病理部)，我們可以提供周全性的服務。

#### 五、結論與建議

1. 本計畫之核心設施主要提供檢體收集、保存、運用之服務，是一個比較不具創新而費力的工作，不易單獨依此發表論文，但可以協助國家型計畫的研究者，好的檢體材料。
2. 未來參與科技計畫者，如研究上對某一檢體有特殊需求可與本計畫聯繫，我們可儘量配合需求辦理。我們將陸續在不同場合或會議提供公開展示的機會，儘量讓參與科技計畫者，瞭解相關核心設施、能提供的服務與相關辦法。未來我們可以持續提供更新的免疫染色及細胞擷取之服務。
3. 本計畫第一年大部份設備與醫院共用，隨著檢體的增加，我們為擴大收集量及服務量，本院 93 年 7 月起為我們這計畫提供專門的空間，與醫院分屬不同大樓，目前建立新的實驗室，已購置一些基本設備如-20，-80，-140 超低溫冷凍櫃、顯微鏡、冷凍切片機等，本院對基因標本庫非常支持，已提供我們超過 1000 萬元，購置全自動免疫染色及細胞擷取設備，希望本計畫能長期而持續獲得國科會的計

畫支持以提供更好之服務。

4. 本院檢體量很多，依本計畫之檢體收集目標，已順利達成。目前由教師兼任本計畫，未來要提高檢體的品質，需要專任病理醫師來鑑定，監督處理標本，然這需要較多的人事費用。

## 六、發表論文

1. Lin CW, Liu TY, Lin CJ, Hsu SM : Oligoclonal T cells in histiocytic necrotizing lymphadenopathy are associated with TLR9<sup>+</sup> plasmacytoid dendritic cells. *Lab Invest* 2005. Feb; 85(2):267-75.